

DOI:CNKI:61-1390/S.20110711.1719.009

网络出版时间:2011-07-11 17:19:00

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20110711.1719.009.html>

特殊生境中植物枯、黄萎病拮抗放线菌的 筛选及鉴定

张文婷,张秋丽,冀媛媛,吴文君,宗兆锋

(西北农林科技大学 植物保护学院,陕西省农业分子生物学重点实验室,陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】从特殊生境中分离筛选对植物枯、黄萎病具有较高生防活性的土壤放线菌,为深入开展枯、黄萎病的生物防治提供高效菌株。【方法】用平板稀释法,从采自广西、江苏、陕西等地特殊生境的 5 份土壤样品中分离放线菌;以西瓜枯萎菌、茄子黄萎菌、棉花枯萎菌作为靶标菌,通过平板对峙法进行初筛和复筛;采用菌丝生长速率法、水琼脂平板法,测定入选菌株发酵液的活性,并对其中拮抗活性高的菌株进行形态特征、培养特征及生理生化特性的分析鉴定,初步确定其分类地位。【结果】从 5 份采自特殊生境的土壤样品中共分离出 53 株放线菌,并从中筛选出 JSC14、GXW1、GXC1、JSW5、JSW7 等 5 株对所有靶标菌都有明显拮抗效果的菌株,其中 JSC14 菌株发酵液抑菌作用最强。对 5 株菌发酵液抑菌活性的测定结果表明,JSC14 和 GXW1 菌株发酵液对供试病原菌菌丝生长和孢子萌发均有强烈的抑制作用,菌丝生长抑制率为 62.98%~95.38%,孢子萌发抑制率为 69.52%~100.0%。经初步鉴定,菌株 JSC14 为链霉菌属白孢类群白色亚群白色链霉菌(*Streptomyces albus*),菌株 GXW1 为拟诺卡氏菌属链孢拟诺卡氏菌(*Nocardiopsis streptosporus*)。【结论】获得 2 株对植物枯、黄萎菌有较高生防活性的土壤放线菌,为进一步探讨利用特殊生境中的放线菌控制土传病害提供了研究材料。

【关键词】 放线菌;特殊生境;生物防治;枯萎病;黄萎病

【中图分类号】 S432.4;Q939.92

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2011)09-0187-06

Screening and identification of antagonistic actinomycetes on *Fusarium oxysporium* and *Verticillium dahlia* from special habitats

ZHANG Wen-ting,ZHANG Qiu-li,JI Yuan-yuan,
WU Wen-jun,ZONG Zhao-feng

(College of Plant Protection,Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture,
Northwest A&F University,Yangling,Shaanxi 712100,China)

Abstract:【Objective】The research was in order to obtain soil actionmycetes with high biocontrol activity against *Fusarium* and *Verticillium* Wilt from special habitats.【Method】Actionmycetes were isolated from five soil samples collected from special habitats in Guangxi,Jiangsu and Shaanxi through dilution plate method;using *Fusarium oxysporium* f. sp. *niveum*,*Verticillium dahlia* and *Fusarium oxysporium* f. sp. *vasinfectum* as target pathogens,the isolates were screened and re-screened in dual cultures;Activities of fermentation broth of the antagonistic strains were determined by using growth rate method and agar plate method,and the high activity strains of them were identified on the basis of morphological,cultural,physiological and biochemical characteristics.【Result】53 agents were isolated from 5 soil samples in total,

* [收稿日期] 2011-01-25

[基金项目] 教育部创新团队发展计划项目(200558);国家高等学校学科创新引智计划项目(B07049);西北农林科技大学创新团队项目

[作者简介] 张文婷(1985—),女,陕西西安人,在读硕士,主要从事植物病害综合防治研究。E-mail:zhangwenting1008@163.com

[通信作者] 宗兆锋(1956—),男,陕西泾阳人,教授,主要从事植物病害综合防治研究。E-mail:zfzong@nwsuaf.edu.cn

and 5 strains out of the 53 isolates showed obvious antagonistic effect on all target pathogens, which were designated as JSC14, GXW1, GXC1, JSW5 and JSW7, and strain JSC14 was the strongest. The activities test of fermentation broth of the 5 antagonistic strains showed that the strain JSC14 and strain GXW1 had significant inhibiting effect on both mycelium growth and conidia germination of target pathogens, Inhibition rates of mycelium growth were 62.98%—95.38%, and inhibition rates of conidial germination were 69.52%—100.0%. In addition, the strain JSC14 was initially identified as *Streptomyces albus*, and the strain GXW1 belonged to *Nocardioopsis streptosporus*. 【Conclusion】 2 high biocontrol activity actionmycetes were obtained, which enriched the research materials for further studies on controlling plant soil-born diseases with biocontrol actionmycetes from special habitats.

Key words: actinomycetes; special habitats; biocontrol; *Fusarium* Wilt; *Verticillium* Wilt

由尖镰孢(*Fusarium oxysporium*)引起的植物枯萎病和由大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)引起的植物黄萎病,是世界范围内 2 种毁灭性土传病害,给农业生产造成了重大经济损失^[1]。这 2 种病害的病原菌具有抗逆性强、分布广、危害大等特点,利用常规方法难以防治^[2]。随着人们生态环保意识的增强,通过生物防治手段控制植物枯、黄萎病的发生已成为各国研究的热点,而生物防治中的“以菌克菌”在控制这类病害中显示出了一定优势,是一条安全、有效的途径^[3-5]。从普通生境中筛选出对植物枯、黄萎病具有高拮抗活性的生防放线菌已有较多实例,但是从特殊生境中成功筛选出对植物枯、黄萎病有拮抗活性的稀有放线菌的相关研究尚未见报道。放线菌作为一类极具代谢活性的微生物类群,由于具有无污染、无残留、可再生、不易诱发抗药性、易于产业化、成本低等特点,已成为生防菌开发的主体,尤其是特殊生境中具有生物活性放线菌的开发^[6-8]。因此,充分发掘和研究自然界中有生防作用的放线菌及其多功能化,达到高效、环保的生物防治目的,是今后植物病害生物防治领域的研究重点之一^[9]。本研究选择特殊生境的土壤分离筛选放线菌,并对其中拮抗活性高的菌株进行初步鉴定,以期获得能有效控制植物枯、黄萎病的生防菌株,为深入开展植物枯、黄萎病的生物防治提供高效菌株。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土 样 2009-08 自广西某农化厂废水管口(简称广西农化废口)、江苏某排污管口、陕西某污水河等特殊生境中采集 5 份土壤样品。

1.1.2 供试病原菌 西瓜枯萎菌(*Fusarium oxysporium* f. sp. *niveum*)、茄子黄萎菌(*Verticillium dahliae*)、棉花枯萎菌(*Fusarium oxysporium* f. sp.

vasinfectum),均由西北农林科技大学植物病害综合防治实验室提供。

1.1.3 培养基 本研究中所用的主要培养基有高氏 1 号培养基、PDA 培养基、SNB 发酵液、菌种鉴定培养基^[10-12]。

1.2 方 法

1.2.1 拮抗放线菌的筛选 采用平板稀释法,从采自农化废口、排污管口、污水河等特殊生境的 5 份土壤样品中分离放线菌,于高氏 1 号培养基上纯化培养。以茄子黄萎菌为靶标菌,通过平板对峙法^[13]对分离到的放线菌进行初筛。对拮抗作用较强、且有特殊性状的菌株,再利用西瓜枯萎菌、茄子黄萎菌、棉花枯萎菌 3 株靶标菌进行复筛,筛选出对植物枯、黄萎病菌均有拮抗作用的菌株。

1.2.2 拮抗菌株发酵液抑菌活性的测定 参照文献^[14-15]的方法,将拮抗菌株用 SNB 发酵液振荡培养,获得放线菌发酵液,按照 1:9 的体积比与融化的 PDA 培养基混匀制成含放线菌发酵液平板。采用菌丝生长速率法^[15]测定放线菌发酵液对靶标菌菌丝生长的抑制作用,以不含发酵液的平板为对照。将放线菌发酵液与靶标菌孢子悬浮液混合,用水琼脂平板法^[16]进行孢子萌发试验,以 SNB 发酵液为对照。每处理 3 次重复。

1.2.3 拮抗菌株的鉴定 利用插片法^[17],在高氏 1 号培养基上培养入选菌株,光镜下观察其菌丝体、孢子丝及孢子等形态特征。参照《链霉菌鉴定手册》^[12]中的方法,将入选菌株在高氏合成 1 号、克氏 1 号、察氏、葡萄糖天门冬素琼脂、马铃薯葡萄糖琼脂、马铃薯块、淀粉琼脂、营养琼脂、葡萄糖酵母膏琼脂等鉴定培养基上,于 25℃ 下培养 7~10 d,定期观察记录其生长情况,以及气生菌丝、基内菌丝和可溶性色素的颜色,并用 ISCC COLOR CHARTS 色谱^[18]记录颜色。参照文献^[10-12]的方法,于明胶

液化、牛奶凝固与胨化、淀粉水解、纤维素水解、硝酸盐还原、硫化氢产生、碳源利用等培养基上,测定入选菌株的各项生理生化指标。

2 结果与分析

2.1 拮抗放线菌的筛选

利用平板稀释法,从采自广西、江苏、陕西等地

特殊生境的 5 份土样中,共获得 53 株放线菌(表 1)。利用茄子黄萎菌作为靶标菌初筛出 19 株菌,再根据抑菌圈大小选出 10 株放线菌进行复筛,结果(表 2)发现,JSC14、GXW1、GXC1、JSW5、JSW7 等 5 株菌对 3 种供试病原菌均有显著的抑制作用,其中菌株 JSC14 抑菌作用最为突出,对 3 种供试病原菌的抑菌圈直径均超过 16 mm。

表 1 不同特殊生境中分离获得的放线菌菌株

Table 1 Numbers of actinomycetes strains isolated from different habitats

土样编号 Serial number of soil samples	样本来源 Source of samples	放线菌数量/(CFU·g ⁻¹) Actinomycete communities	获得的菌株数 No. of isolates
1	广西农化废口 GXC	9.13×10 ⁵	13
2	广西农化废口 GXW	7.41×10 ⁵	16
3	江苏排污管口 JSC	8.34×10 ⁵	14
4	江苏排污管口 JSW	9.01×10 ⁶	7
5	陕西污水河 YLC	2.28×10 ⁶	3

表 2 复筛的 10 株放线菌对 3 种供试病原菌的抑菌作用

Table 2 Inhibiting effects of the 10 strains re-screened on 3 target pathogens mm

菌株 Strain	抑菌圈直径 Inhibition zone			菌株 Strain	抑菌圈直径 Inhibition zone		
	西瓜枯萎菌 <i>F. oxysporium</i> f. sp. <i>niveum</i>	茄子黄萎菌 <i>V. dahliae</i>	棉花枯萎菌 <i>F. oxysporium</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>		西瓜枯萎菌 <i>F. oxysporium</i> f. sp. <i>niveum</i>	茄子黄萎菌 <i>V. dahliae</i>	棉花枯萎菌 <i>F. oxysporium</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>
JSC14	23.0	16.7	21.5	GXW1	10.8	12.5	16.0
GXC3	13.5	5.8	8.6	GXC13	8.3	9.1	11.5
JSW5	12.5	11.5	10.0	GXW11	7.0	11.2	8.0
JSW7	12.0	9.3	14.6	GXW3	0	12.7	11.0
GXC1	11.3	12.4	14.0	YLC3	0	7.5	0

2.2 拮抗菌株发酵液的抑菌活性

JSC14、GXW1、GXC1、JSW5 和 JSW7 等 5 株拮抗菌株发酵液对西瓜枯萎菌、茄子黄萎菌、棉花枯萎菌等 3 种病原菌的抑菌活性测定结果见表 3。由表 3 可以看出,5 株拮抗菌株发酵液对供试病原菌菌丝生长和孢子萌发均表现出一定的抑制作用,菌丝生长抑制率均大于 50%,而孢子萌发抑制率超过 69%,表明拮抗菌株发酵液中可能存在某种代谢物质,其对孢子萌发的抑制活性更高。此外,5 株拮抗

菌株发酵液对西瓜枯萎菌、棉花枯萎菌的抑制效果优于茄子黄萎菌,这表明同种拮抗菌对不同病原菌或同种病原菌的不同专化型的抑制作用存在差异,这种差异可能与菌株间的作用方式不同有关。综上所述认为,菌株 JSC14 发酵液的抑菌作用最强,对供试病原菌菌丝生长抑制率均大于 81%,萌发抑制率在 95%以上,菌株 GXW1 次之,可见这 2 株拮抗菌株有进一步研究开发的价值。

表 3 拮抗菌株发酵液对 3 种病原菌的抑制作用

Table 3 Activities of fermentation broth of the antagonistic strains against 3 target pathogens

处理 Treatment	西瓜枯萎菌 <i>F. oxysporium</i> f. sp. <i>niveum</i>			茄子黄萎菌 <i>V. dahliae</i>			棉花枯萎菌 <i>F. oxysporium</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>		
	菌落 直径/mm Colony diameter	菌丝生长 抑制率/% Inhibition rates of mycelium growth	孢子萌发 抑制率/% Inhibition rates of conidial germination	菌落 直径/mm Colony diameter	菌丝生长 抑制率/% Inhibition rates of mycelium growth	孢子萌发 抑制率/% Inhibition rates of conidial germination	菌落 直径/mm Colony diameter	菌丝生长 抑制率/% Inhibition rates of mycelium growth	孢子萌发 抑制率/% Inhibition rates of conidial germination
CK	85	—	—	23.1	—	—	63.5	—	—
JSC14	8.7	95.38	100	8.4	81.23	95.44	9.7	91.97	98.63
GXW1	25.8	74	82.64	11.7	62.98	69.52	13	86.32	95.36
GXC1	32.3	65.88	94.71	10.3	70.72	84.35	14	84.62	91.75
JSW5	17.4	84.5	95.94	13.1	55.25	89.57	19.5	75.21	71.13
JSW7	16.9	85.13	79.38	13.6	52.49	74.96	12.8	86.67	83.81

2.3 拮抗菌株的鉴定

显微观察发现,菌株 JSC14 气生菌丝发达而有分枝,基内菌丝密结成网状,无横隔、不断裂,气生菌丝和基内菌丝上都有孢子链形成,孢子链直或波曲,顶端呈 1~3 圈紧密螺旋状,孢子圆形或椭圆形;菌株 GXW1 气生菌丝细长、有横隔及少而不规则分枝,基内菌丝粗短、分枝丰茂、断裂成球状或杆状小

体,孢子丝呈 Z 形弯曲,某些枝端膨大后形成似链霉菌的串生孢子。在高氏 1 号培养基上,25 ℃ 培养 7 d 发现,菌株 JSC14 菌落圆形、边缘完整、表面绒粉状、隆起、不易挑取、有土味;菌株 GXW1 菌落圆形、边缘丝状、表面粉状多孔、易挑取、有特殊气味。菌株 JSC14 和 GXW1 的培养特征和生理生化特征见表 4 和表 5。

表 4 2 株拮抗菌株 JSC14 和 GXW1 在不同培养基上的培养特征

Table 4 Cultural characteristics of two antagonistic strains JSC14 and GXW1 on different media

培养基 Medium	气生菌丝 Aerial mycelium		基内菌丝 Substrate mycelium		可溶性色素 Soluble pigment		生长情况 Growth	
	JSC14	GXW1	JSC14	GXW1	JSC14	GXW1	JSC14	GXW1
察氏 Sucrose Czapek's agar	白色 White	无气丝 No aerial mycelium	淡黄色 Light yellow	无色 Leuco	无 No	无 No	+++	+
克氏 1 号 Krasilnikoy's No. 1 synthetic	乳白色 Milky white	乳白色 Milky white	象牙黄 Ivory yellow	杏仁黄色 Almond	无 No	无 No	++	+
淀粉琼脂 Starch ammonium agar	无气丝 No aerial mycelium	白色 White	透明 Transparent	贝壳色 Shell	无 No	无 No	+	+
营养琼脂 Nutrient agar	白色 White	白色 White	乳脂色 Bisque	浅黄褐色 Light yellow brown	无 No	无 No	++	+
马铃薯块 Potato patch	白色 White	无气丝 No aerial mycelium	灰褐色 Grey brown	浅驼色 Light camel	无 No	无 No	++	++
高氏合成 1 号 Gause's No. 1 synthetic agar	白色至灰色 White to grey	抹茶色 Dimgreen tea color	肉色 Meat	乌子色 Pink yellow	无 No	无 No	+++	+++
马铃薯葡萄糖琼脂 Potato dextrose agar	茶鼠色 Tea mouse color	肌色 Skin	深灰褐色 Dark grey brown	卵色 Egg	浅褐色 Light brown	无 No	+++	+++
葡萄糖酵母膏琼脂 Glucose yeast extract agar	黄白色 Yellow white	黄白色 Yellow white	黄褐色 Yellow brown	肉粉色 Meat pink	无 No	无 No	++	++
葡萄糖天门冬素琼脂 Glucose asparagines agar	白烟色 White smoke	黄白色 Yellow white	无色 Leuco	土黄色 Soil yellow	无 No	无 No	++	+++

注:“+、++、+++”分别表示菌株的生长情况“差”、“一般”、“良好”。
Note:Strains growth were indicated by “+、++、+++”,and means weak growth,medium growth and well growth.

表 5 2 株拮抗菌株 JSC14 和 GXW1 的生理生化特性

Table 5 Physiological and biochemical characteristics of two antagonistic strains JSC14 and GXW1

生理生化特性 Physiological characteristic	菌株 Strain		生理生化特性 Physiological characteristic	菌株 Strain	
	JSC14	GXW1		JSC14	GXW1
葡萄糖 Glucose	+++	++	肌醇 Inositol	+	+
半乳糖 Galactose	++	++	明胶液化 Gelatine liquification	+	++
果糖 Fructose	+++	+	牛奶凝固 Milk coagulation	—	—
蔗糖 Sucrose	+	+	牛奶酪化 Milk peptonization	—	+
麦芽糖 Maltose	+	++	淀粉水解 Starch hydrolysis	++	—
木糖 Xylose	++	+	纤维素利用 Cellulose usage	—	—
阿拉伯糖 Arabinose	++	+	硝酸盐还原 Nitrate deoxidization	—	+
鼠李糖 Rhamnose	+	++	硫化氢产生 Production of H ₂ S	—	—
甘露糖 Mannitol	++	+			

注:“+、++、+++”表示反应强度及碳源利用情况依次增强;“—”表示不发生反应。
Note:Intensity of activity and utilization of carbohydrate were indicated by “+、++、+++”,the degree was increased successively;no activity was “—”.

根据菌株的形态特征、培养特征以及生理生化特性,依据阎逊初的《放线菌的分类和鉴定》^[10]以及文献[11-12,19],将菌株 JSC14 初步鉴定为链霉菌

属白孢类群白色亚群白色链霉菌(*Streptomyces albus*);将菌株 GXW1 初步鉴定为拟诺卡氏菌属链孢拟诺卡氏菌(*Nocardioopsis streptosporus*),其中白

色链霉菌是常见放线菌,链孢拟诺卡氏菌是稀有放线菌。

3 结论与讨论

从常规生境下获得生防放线菌已有较多成功实例^[20-22],但从特殊生境的土壤中分离筛选具有生防潜能的放线菌相对较少^[23-25]。本试验在多年研究生防放线菌的基础上,以采自特殊生境的 5 份土样为研究对象,进行了土壤放线菌的分离和筛选研究,共分离到 53 株放线菌,其中 JSC14、GXW1、GXC1、JSW5、JSW7 等 5 株菌对西瓜枯萎菌、茄子黄萎菌和棉花枯萎菌 3 种供试病原菌均有较好的抑菌效果。因此,从特殊生境的土壤样品中获得生防放线菌是可行的,且能够获得高活性菌株。本研究发现,JSC14 和 GXW1 2 株菌对供试病原菌菌丝生长和孢子萌发均有强烈的抑制作用,且菌株 JSC14 为链霉菌属白袍类群白色亚群白色链霉菌(*S. albus*),菌株 GXW1 为拟诺卡氏菌属链孢拟诺卡氏菌(*N. streptosporus*)。拮抗菌株的获得不仅为本实验室正在构建的生防菌库增添了新的菌源,而且为开发出廉价、高效的生物农药和抗生素研究奠定了菌种基础,也为进一步研究高效拮抗菌及多菌协同控制植物枯、黄萎病的机制奠定了基础。

本研究主要是在离体条件下进行的,但不能仅凭皿内拮抗活性的强弱来衡量菌株的生防潜能,仍要对菌株的抑菌活性进行综合评价才能得出可信的结果^[26]。此外,用传统分类方法对菌株进行鉴定,只能初步确定其种属地位^[27],要最终确定放线菌株的具体分类地位,说明菌株的遗传进化关系,尚需进行细胞壁化学成分比较和采用分子生物学手段。

[参考文献]

[1] 朱海霞,马 强,宗兆锋,等.不同生防放线菌组合防治枯、黄萎病研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2009,37(7):152-156.
Zhu H X, Ma Q, Zong Z F, et al. Control effect of combining biocontrol strains against *Fusarium oxysporium* f. sp. *niveum* and *Verticillium dahliae* [J]. Journal of Northwest A& F University: Natural Science Edition, 2009, 37(7): 152-156. (in Chinese)

[2] 金雪菲.复配菌剂防治植物枯、黄萎病害研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2010:1-7.
Jin X F. Study on control effect of integration biocontrol agents combined with fungicide against *Fusarium* Wilt and *Verticillium* Wilt [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2010:1-7. (in Chinese)

[3] 赵丽明,丁延芹,路晓萌,等.西瓜根际枯萎病拮抗放线菌的筛选及鉴定[J].生物技术通报,2010(5):107-110.
Zhao L M, Ding Y Q, Lu X M, et al. Screening and identification of actinomycetes antagonistic to *Fusarium oxysporum* from rhizosphere of watermelon [J]. Biotechnology Bulletin, 2010(5):107-110. (in Chinese)

[4] El-Tarabily K, Sivasithamparam K. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2006, 38: 1505-1520.

[5] 许宗弘.棉花枯黄萎病研究现状及展望[J].知识经济,2010(16):132.
Xu Z H. Research progress and prospect on cotton *Fusarium* Wilt and cotton *Verticillium* Wilt [J]. Knowledge Economy, 2010(16):132. (in Chinese)

[6] Bérdy J. Bioactive microbial metabolites, a personal review [J]. J Antibiot, 2005, 58(1):1-26.

[7] 姜 怡,徐 平,娄 恺,等.放线菌药物资源开发面临的问题与对策[J].微生物学通报,2008(2):272-274.
Jiang Y, Xu P, Lou K, et al. Problem and countermeasure on development of pharmaceuticals from actinomycete resources [J]. Microbiology, 2008(2):272-274. (in Chinese)

[8] 姜 钰,董怀玉,徐秀德,等.放线菌在植病生防中的研究进展[J].杂粮作物,2005,25(5):1329-1331.
Jiang Y, Dong H Y, Xu X D, et al. Progress on the research of actinomycetes in biocontrol of plant disease [J]. Rain Fed Crops, 2005, 25(5):1329-1331. (in Chinese)

[9] 李宏科.拮抗微生物的开发和利用[J].世界农业,1998(2):28-30.
Li H K. Development and utilization of antagonistic microorganism [J]. World Agriculture, 1998(2):28-30. (in Chinese)

[10] 阎逊初.放线菌的分类和鉴定[M].北京:科学出版社,1992.
Yan X C. Taxonomy and identification of actinomycetes [M]. Beijing: Science Press, 1992. (in Chinese)

[11] 张继忠.微生物分类学[M].上海:复旦大学出版社,1990.
Zhang J Z. Taxonomy of microorganism [M]. Shanghai: Fudan University Press, 1990. (in Chinese)

[12] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组.链霉菌鉴定手册[M].北京:科学出版社,1975.
Group on Taxonomy of Actinomycetes in Institute of Microbiology of Chinese Academy of Sciences. Identification manual of *Streptomyces* [M]. Beijing: Science Press, 1975. (in Chinese)

[13] Getha K, Vikineswary S. Antagonistic effects *Streptomyces* violaceusniger strain G10 on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4; Indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process [J]. J Indust Microb, 2002, 28: 303-310.

[14] 梁亚萍,宗兆锋,马 强.6 株野生植物内生放线菌防病促生作用的初步研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(7):131-136.
Liang Y P, Zong Z F, Ma Q. Inhibiting and promoting effec-

tion plants of six strains endophytic actinomycetes isolated from wild plants [J]. Journal of Northwest A& F University: Natural Science Edition, 2007, 35(7): 131-136. (in Chinese)

[15] 吴文君. 植物化学保护实验技术指导 [M]. 西安: 陕西科学与技术出版社, 1998.

Wu W J. Laboratory instructor of plant chemical protection [M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press, 1998. (in Chinese)

[16] 王兰英, 宗兆锋, 刘正坪. 大丽轮枝孢和灰葡萄孢生防放线菌的分离筛选 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(增刊): 153-156.

Wang L Y, Zong Z F, Liu Z P. Isolation and screening of bio-control actinomycetes against *Verticillium dahliae* and *Botrytis cinerea* [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2005, 33(Sup.): 153-156. (in Chinese)

[17] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版社, 2000: 80-83.

Cheng L J, Xue Q H. Experimental techniques of microbiology [M]. Xi'an: World Book Publishing Company, 2000: 80-83. (in Chinese)

[18] Kell Y K L. Inter-society color council-national bureau of standards color-name charts illustrated with centroid colors [M]. Washington D C: US Government Printing Office, 1964.

[19] 杨苏声. 细菌分类学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1997: 135-145.

Yang S S. Taxonomy of Bacteria [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1997: 135-145. (in Chinese)

[20] 安德荣, 慕小倩, 刘翠娟, 等. 土壤拮抗放线菌的分离和筛选 [J]. 微生物学杂志, 2002, 22(5): 1-3.

An D R, Mu X Q, Liu C J, et al. Isolation and screening of antagonistic actinomycetes from soil [J]. Journal of Microbiology, 2002, 22(5): 1-3. (in Chinese)

[21] 李 新, 纪明山. 土壤中拮抗放线菌的分离和筛选 [J]. 河南农业科学, 2008(1): 58-60.

Li X, Ji M S. Screening of antagonistic actinomycetes from soil [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2008(1): 58-60. (in Chinese)

[22] 杨 宇, 吴元华, 郑亚楠. 瓜类枯萎病拮抗放线菌的筛选 [J]. 北方园艺, 2006(4): 177-179.

Yang Y, Wu Y H, Zheng Y N. Screening of antagonistic actinomycetes against *Fusarium Wilt* of cucurbits [J]. Northern Horticulture, 2006(4): 177-179. (in Chinese)

[23] 朱宏建, 易图永, 周鑫钰. 土壤放线菌生防活性物质的研究进展 [J]. 作物研究, 2007(2): 149-151.

Zhu H J, Yi T Y, Zhou X Y. Progress on biocontrol active metabolites from soil actinomycetes [J]. Crop Research, 2007(2): 149-151. (in Chinese)

[24] 李载渊, 廖东奇, 陈汉清, 等. 一株拮抗香蕉枯萎镰刀菌稀有放线菌的分离及鉴定 [J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(2): 303-309.

Li Z Y, Liao D Q, Chen H Q, et al. Isolation and identification of a strain of rare actinomycetes with antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* [J]. Genomics and Applied Biology, 2010, 29(2): 303-309. (in Chinese)

[25] 骆耐香, 陈森洲, 袁桂峰, 等. 广西沿海地区红树林根系土壤中放线菌的分离与鉴定 [J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(2): 310-313.

Luo N X, Chen S Z, Yuan G F, et al. Isolation and identification of actinobacteria from the soil of root system of mangrove forest in Guangxi coastal area [J]. Genomics and Applied Biology, 2010, 29(2): 310-313. (in Chinese)

[26] 郝永丽. 拮抗放线菌的分离筛选及鉴定 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2007: 29-30.

Hao Y L. Screening and identification of biocontrol actinomycetes [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2007: 29-30. (in Chinese)

[27] Tsurumi Y, Ohhata N, Iwamoto T. WS79089A, B and C, new endothelia converting enzyme inhibitors isolated from *Streptopogonium roseum* NO. 79089. Taxonomy, fermentation, isolation, physicochemical properties and biological activities [J]. J Antibiot, 1994, 47(6): 619.